

論文審査の要旨及び担当者

| | | | | |
|--|-------|---|-----|---------|
| 報告番号 | 甲 ㊦ 第 | 号 | 氏 名 | 磯 田 美 帆 |
| 論文審査担当者 主 査 生理学 岡 野 栄 之 システム医学 洪 実 解剖学 仲 嶋 一 範 内科学 中 原 仁 学力確認担当者：岡野 栄之 審査委員長：洪 実 試問日：平成31年 1月23日 | | | | |
| (論 文 審 査 の 要 旨) | | | | |
| 論文題名：Robust production of human neural cells by establishing neuroepithelial-like stem cells from peripheral blood mononuclear cell-derived feeder-free iPSCs under xeno-free conditions (新規ゼノフリー培地を用いたヒトiPS細胞由来神経前駆細胞誘導法の開発) | | | | |
| <p>本研究では、新規のゼノフリー（異種成分を含まない）培地であるStemFit®AS200（以下、AS200）を用いた臨床グレードの培養系により、研究グレードと同等の性質を有するlong-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells (lt-NES細胞)を誘導可能であることを明らかにした。また、京都大学iPS細胞研究所の再生医療用iPS細胞と同一方法で樹立されたiPS細胞からも本培養系でlt-NES細胞を作製可能であることを示した。</p> <p>審査では、まずlt-NES細胞の特徴について問われた。神経ロゼットの特徴であるロゼットマーカーPLZFやDach1の発現、パターンニングシグナルに対する応答能、神経への高い分化指向性を長期間維持する点であると回答された。関連して、ロゼットマーカーが発現している生物学的意義、ロゼットマーカーの前後軸での発現について問われた。神経管においてPLZFの発現をノックダウンすると神経前駆細胞が減少し、神経分化が促進されとの報告から、神経発生初期に神経前駆細胞の維持に必要ではないかと回答された。また、PLZFはマウス脳では神経板で広く発現するがやがて菱脳に局限されとの報告があると回答された。続いて、in vivo移植実験では機能的な有効性評価を実施したかとの問いについては、今後の検討課題であると回答された。また、移植部位によって神経サブタイプの分化指向性が異なるのか、その場合シナプス興奮と抑制のバランスが有効性に影響するか問われた。lt-NES細胞はin vitroでは大半がGABA作動性神経に分化すると報告されているが、in vivoでのホスト環境の影響を検討した先行研究があるかどうかについては判らないと回答された。次に、AS200の培地成分の生体毒性について問われた。生物由来原料基準に適合しておりウイルス等の感染リスクが無く、既知成分からなる合成培地であり毒性は無いと回答された。続いて、Microelectrode arrayを用いた神経機能評価について、より長期間培養するとBicuculline添加による神経発火がさらに増加するか問われた。検討していないが、評価時の成熟培養系では更に長期培養すると細胞が電極から剥がれてしまうために比較検討は困難であったと回答された。Bicucullineによる自発発火頻度の増加は研究グレードおよび臨床グレードで作製したlt-NES細胞で同等かという問いについては、研究グレードで誘導したlt-NES細胞についてはBicucullineに対する応答性を評価していないため、今後の検討課題であると回答された。</p> <p>その他、研究グレードおよび臨床グレードで作製したlt-NES細胞の同等性評価手法としては、網羅的遺伝子発現パターンの解析はpair-wise比較を用いること、in vivo評価は脳線条体片側ずつ各細胞を移植し、同一個体で評価すべきであるとの貴重なご助言を頂き、今後の研究に活かしたいと回答された。</p> <p>以上、同等性評価については検討すべき課題が残されているものの、治験利用可能な臨床グレードのヒトiPS細胞由来神経前駆細胞誘導系を確立した点において、再生医療の産業化に向けて有意義な研究であると評価された。</p> | | | | |